

# Effects of Zoledronic Acid on Human Gingival Fibroblasts and Human Umbilical Vein Endothelial Cells

学位名	博士(歯学)
学位授与機関	日本歯科大学
学位授与年度	2019
学位授与番号	甲第1220号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1102/00000968/">http://id.nii.ac.jp/1102/00000968/</a>

氏 名(生年月日)	神 原 優 美 (昭和63年11月 9 日)
本 籍	香 川 県
学 位 の 種 類	博 士 (歯 学)
学 位 記 番 号	甲 第 1 2 2 0 号
学位授与の日付	令和 2 年 2 月 27 日
学位授与の要件	
学 位 論 文 題 目	Effects of Zoledronic Acid on Human Gingival Fibroblasts and Human Umbilical Vein Endothelial Cells
論 文 審 査 委 員	主 査 大 越 章 吾 副 査 仲 村 健 二 郎 小 椋 一 朗

## 論 文 内 容 の 要 旨

ビスフォスフォネート製剤は重大な有害事象として、Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw（以下 MRONJ）を引き起こし、破骨細胞への影響に加えて、骨露出の要因として軟組織の治癒不全が指摘されている。本研究は、ゾレドロン酸ナトリウム（以下 ZOL）が口腔軟組織の創傷治癒に関連するヒト歯肉線維芽細胞（Human gingival fibroblasts：以下 HGFs）とヒト臍帯静脈内皮細胞（Human Umbilical Vein Endothelial Cells：以下 HUVECs）に及ぼす影響を検討した。

HGFs および HUVECs を用い、各細胞培地単独群および ZOL (50 $\mu$ M) 添加群に分類した。細胞増殖は 0.43% Trypan-Blue 溶液を用いて 2, 4, 6, 8 日後の各細胞数を計測した。そして、Wound Healing Assay にて、各実験群の細胞遊走率を測定し、Apoptosis Assay により、各実験群のアポトーシス率を確認した。また、各細胞の各実験群において培養上清を回収し、培地内の血管内皮増殖因子（以下 VEGF）、線維芽細胞増殖因子（以下 FGF-2）の産生量を ELISA 法で測定した。さらに、VEGF-A について Real time RT-PCR 法で mRNA 発現量の比較検討を行った。結果を以下に示す。

1. 両細胞ともに、ZOL 添加により細胞の増殖能が抑制され、アポトーシスの促進を認めた。
2. Wound Healing Assay による検討では、両細胞ともに、ZOL 添加により遊走能が抑制された。
3. ELISA 法による検討では、HGFs は ZOL 添加群において有意な VEGF 産生量の増加を認めた。一方、HUVECs では、ZOL 添加群において VEGF 産生量が有意な減少を認めた。FGF - 2 産生量は両細胞において ZOL 添加により有意な変化は認めなかった。
4. Real time RT-PCR 法では、HGFs および HUVECs において、VEGF-A-mRNA 発現量は ZOL 添加後に有意な増加を認めた。

上記の結果より、両細胞ともに、ZOL 添加により細胞の増殖能、遊走能が抑制され、アポトーシスの促進を認めた。ZOL 添加により VEGF 産生量は HGFs では経時的に増加したが、HUVECs では減少した。一方、VEGF-A-mRNA 発現量は両細胞ともに、増加していた。ZOL に対する細胞毎の異なった VEGF の分子機序が示唆され、興味深い結果と考えられた。

## 論 文 審 査 の 要 旨

本論文は、口腔軟組織の創傷治癒に関連する HGFs および HUVECs に ZOL を作用させ、その影響を検討したものである。その結果、ZOL の投与により、両細胞ともに増殖能、遊走能の抑制やアポトーシスの促進を認め、HUVECs の VEGF 産生調節機構の異常を明らかにした。本研究は MRONJ の発症メカニズムや予防法の一助となり得る知見である。以上は歯学に寄与するところが大きく、博士（歯学）の学位に値するものと審査する。